

İdrarın Mikroskopik İncelemesi: Otomatik Analizör ve Manuel Sonuçların Karşılaştırılması

THE MICROSCOPIC EXAMINATION OF URINE : COMPARISON OF AUTOMATED ANALYZER AND MANUAL RESULTS

Asiye AKGÜN*, Figen SAĞIR*, Özkan ALATAŞ**, Ömer ÇOLAK**

* Arş.Gör., Dr. Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,

** Doç.Dr., Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, ESKİŞEHİR

Özet

İdrarın mikroskopik incelemeleri renal hastalıkların tanı ve tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Çalışmamızda üç yüz rutin idrar örneği mikroskopisinin IRIS yarı otomatik idrar analizörü sonuçları, aynı idrar sedimentlerinin boyalı ve boyasız preparatlarının manuel mikroskopik inceleme sonuçları ile karşılaştırılmıştır. IRIS; eritrosit, lökosit, silendir ve kristallerin saptanmasında özellikle boyasız preparatlara göre daha duyarlı sonuçlar vermiştir. Ancak idrar sedimentinin boyalı preparatlarının incelenmesi de direkt mikroskopiye göre şekilli elemanların tanınmasında daha yüksek bir başarıya sahiptir. İdrar analizörü, ayrıca idrar analiz prosedürünün standardize edilmesini, oyalayıcı ve zaman alıcı el işlerinin ortadan kalkmasını, raporlama ve arşivlemenin hızlı ve doğru yapılmasını sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: İdrar analizi, İdrar mikroskopisi, Hücreler, Silendir, Kristaller

T Klin Tıp Bilimleri 2000, 20:154-159

Summary

The microscopic examination of urine has a widespread usage in the diagnosis and treatment of renal diseases. In this study, the results of urine microscopy on 300 routine urinalysis specimens were compared using IRIS, a semi-automated urine analyzer, with results obtained using manual microscopic examination of stained and non-stained slides. IRIS was more sensitive in identifying of erythrocyte, leukocyte, cast and crystals especially compared with the results of non-stained microscopic examination. However, the stained examination of urine sediments were more successful in the recognition of particulate analytes in urine than those the results of non-stained examination. Moreover, the automation of microscopic examination of urine provides good standardization of the urinalysis procedure, saves considerable manipulative handling and time, automatically consolidates fast and accurate reports and storage of results.

Key Words: Urinalysis, Microscopy of urine, Cells, Cast, Crystals

T Klin J Med Sci 2000, 20:154-159

Günümüzde hastane laboratuvarlarında hastalardan yapılması en fazla istenilen testlerden birisi rutin idrar analizleridir. İdrar örneğinin kolayca verilmesi, invaziv girişime gereksinim duyulmaması ve renal ve/veya üriner sistem hastalıklarının tanı ve tedavisi için çok yararlı bilgiler vermesi rutin laboratuvar testleri içerisinde idrar analizlerinin vazgeçilmez bir yer kazanmasını sağlamıştır (1-3).

Son yıllarda idrarın kimyasal analizlerinin

hızlı ve güvenilir olarak yapılması için stripler geliştirilmiş, bu sayede standardizasyon sağlanmıştır. Ancak rutin idrar analizlerinin en çok zaman alan ve emek gerektiren kısmı olan idrarın mikroskopik incelemesi hala daha standardize edilmemiştir. Uygun şekilde toplanmış idrar örneğinin dikkatli bir mikroskopik incelemesi; hastada renal hastalık bulgusu, var olan lezyonun cinsi ya da hastalığın aktivitesi gibi konularda son derece yararlı bilgiler verebilmektedir. İdrarın mikroskopik incelemesindeki değişkenlikler; idrarın santrifüj edilip edilmemesi, santrifüjün hızı (g), süresi, resüspansiyon için tüpte kalan idrar miktarı, boya kullanılıp kullanılmaması, analizi yapan kişinin deneyimi, eğitimi, harcadığı zaman, rapor-

Geliş Tarihi: 20.12.1999

Yazışma Adresi: Dr.Özkan ALATAŞ
Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya AD, 26470, ESKİŞEHİR

lamada standardizasyon olmaması şeklinde sayılabilir (4).

Yarı otomatik idrar analizörü olan IRIS, idrarın kimyasal analizlerini strip ile idrarın mikroskopik incelemesini ise bir optik lens sistemi ile gerçekleştirmektedir.

Bu çalışmanın amacı, idrarın mikroskopik incelemesinde standardizasyonun önemini vurgulamaktır. Bu amaçla, hasta idrarlarının IRIS yarı otomatik idrar analizörü sonuçları ile aynı idrar sedimentlerinin boyalı ve boyasız preparatlarının operatör tarafından mikroskopik inceleme sonuçlarının karşılaştırması yapılmıştır.

Materyel ve Metod

İdrar laboratuvarına gelen poliklinik hastası idrar örneklerinden rasgele seçilen 300 idrar çalışmaya alındı. Hastaların çeşitli hastalıkları var olup, genel hastane popülasyonu idi. Miktarı en az 20 ml olan spot idrar örneklerinin laboratuara verildikten sonra 2 saat içerisinde IRIS idrar analizörü ile ve deneyimli teknisyenler tarafından idrar sedimentinin boyalı ve boyasız preparatlarının ayrı ayrı incelenmesi sağlandı.

İdrarlar 10ml'lik iki eşit parçaya bölündükten sonra 10 ml bir bölüm IRIS tarafından incelendi. Bu analizör santrifüj edilmemiş idrarda şekilli eleman analizi yapmaktadır. İdrar örneği cihazın özel bir bölümünde kristal viyole bazlı bir boya ile otomatik olarak boyanır. Boyamadan sonra idrar sabit bir hız ile cihaz içindeki mikroskobun tablasında bulunan flow cell'in içine gelir. Flow cell içinden idrar geçerken özel ışık kaynağı ile aydınlatılır, bu sırada mikroskobun okülerine yerleştirilmiş digital kamera ile görüntüler kaydedilir ve bilgisayara gönderilir. Bilgisayar bu görüntüleri sınıflandırarak operatörün ekranına yollar. Operatör bu sediment görüntülerini kabul eder, değiştirir veya ret eder.

Manuel metot için ayrılan 10 ml idrar ise 3 dk 3000 g'de santrifüj edildi. Tüpün dibinde 1 ml idrar kalacak şekilde süpernatant döküldü. Kalan idrar resüspanse edildikten sonra bir damla alınarak boyasız mikroskopik inceleme için hazırlandı ve numaralandırıldı. Tüpte artan idrara 1 damla kristal viole safranin boyası damlatıldı (5). Çalkalandıktan

sonra 1 damla idrar boyalı preparat mikroskopisi için hazırlandı.

Boyalı ve boyasız idrar preparatlarının, her biri birbirinden ve IRIS analizörünün sonuçlarından habersiz iki deneyimli teknisyen tarafından en az 5 saha taranacak şekilde 40x ve 10x büyütme ile incelendi. Sonuçlar sahaların ortalaması alınarak verildi.

Sonuçlar ortalama \pm Standart hata olarak verildi. Ölçümlerin kesinliğinin karşılaştırılmasında Wilcoxon t testi kullanıldı. Ayrıca normal anormal ayrımının değerlendirilmesinde χ^2 testi uygulandı.

Sonuçlar

300 idrar örneğinin incelenmesi sonucunda çeşitli şekilli elemanların varlığı saptandı. Küçük büyütme (10x) ile saptanan eritrosit, lökosit, epitel hücresi kristal ve bakteri sayıları ile büyük büyütme (40x) ile belirlenen silendir sayıları tablo 1'de verilmiştir. Bu tabloda her parametre için uygulanan 3 yöntemden herhangi birinde en az bir tane şekilli eleman varsa bu örnek ilgili gruba dahil edilmiştir.

167 idrar numunesinde eritrosit saptanmıştır. Eritrosit sayısı açısından boyalı ve boyasız metot arasında anlamlı fark bulunmazken, IRIS boyasız ve boyalı manuel yöntemden anlamlı derecede fazla eritrosit tespit etmiştir (sırasıyla $p<0.01$ ve $p<0.001$) (Tablo 1).

245 idrar örneğinde lökosit sayısı yönünden IRIS'in manuel metotlara anlamlı bir üstünlüğü vardır ve her iki yöntemden daha fazla sayıda lökosit tespit etmiştir (her ikisi için $p<0.001$). (Tablo 1). Boyalı ve boyasız manuel metotlar arasında anlamlı fark yoktur.

Epitel hücrelerini saptamada boyasız ve boyalı manuel yöntemler arasında fark bulunmazken, IRIS boyasız ve boyalı manuel incelemelerden düşük sayıda epitel tespit etmiştir (sırasıyla $p<0.05$ ve $p<0.01$) (Tablo 1).

Kristaller ve Bakterilerin saptanmasında ise IRIS, boyalı ve boyasız yöntemler arasında fark belirlenmemiştir.

5 numunede tespit edilen silendir yönünden ise IRIS'in her iki manuel yöntemle göre anlamlı bir üstünlüğü vardır ($p<0.05$) (Tablo 1).

Tablo 1. İdrar örneklerinin IRIS, Boyalı ve Boyasız mikroskopik inceleme sonuçları (Ortalama ± Standart hata)

PARAMETRE	n	BOYASIZ MİKR.	BOYALI MİKRO.	IRIS
ERİTROSİT	167	7.2 ± 1.6	7.1 ± 1.6	21.1 ± 6.9 ^{a,b}
LÖKOSİT	245	6.9 ± 1.1	8.5 ± 1.3	11 ± 3.5 ^{b,c}
EPİTEL HÜCRE.	209	4.6 ± 0.5	4.6 ± 0.5	4.3 ± 0.9 ^{d,e}
KRİSTAL	43	126 ± 48.7	171 ± 56.5	213 ± 46.4
BAKTERİ	60	395 ± 62.3	360 ± 61.8	393 ± 53.6
SİLENDİR	5	0.4 ± 0.3	0.6 ± 0.3	4 ± 0.6 ^{d,f}

a Boyasız mikroskopiye göre $p < 0.01$

b Boyalı mikroskopiye göre $p < 0.001$

c Boyasız mikroskopiye göre $p < 0.001$

d Boyasız mikroskopiye göre $p < 0.05$

e Boyalı mikroskopiye göre $p < 0.01$

f Boyalı mikroskopiye göre $p < 0.05$

Tablo 2. Eritrositlerin metodlar arası karşılaştırmalı bulguları (N=eritrosit<3, A=eritrosit >3)

Boyasız/Boyalı	N	A	T	Boyasız/IRIS	N	A	T	Boyalı/IRIS	N	A	T
N	128	7	135	N	112	23	135	N	112	23	135
A	7	25	32	A	5	27	32	A	5	27	32
T	135	32	167	T	117	50	167	T	117	50	167
$P < 0.001$				$p < 0.001$				$p < 0.001$			

Tablo 3. Lökositlerin metodlar arası karşılaştırmalı bulguları (N=lökosit<10, A=lökosit>10)

Boyasız/Boyalı	N	A	T	Boyasız/IRIS	N	A	T	Boyalı/IRIS	N	A	T
N	209	15	224	N	210	14	224	N	205	7	212
A	3	18	21	A	8	13	21	A	13	20	33
T	212	33	245	T	218	27	245	T	218	27	245
$P < 0.001$				$p < 0.001$				$p < 0.001$			

Tüm parametrelerin normal ve anormal değerleri belirlenerek her üç yöntem χ^2 testi ile karşılaştırılmıştır. Buna göre Eritrosit>3/B.B., Lökosit>10/B.B., bakteri, kristal, epitel, silendir varlığı anormal olarak kabul edilmiş ve sonuçlar aşağıdaki gibi verilmiştir.

Eritrosit

Eritrositlerin normal ve anormal değerlendirilmesi açısından, boyasız yöntem boyalıdan anlamlı düzeyde fazla anormal idrar örneği tespit

etmiştir ($p < 0.001$). IRIS ise manuel yöntemlere göre daha fazla anormal idrar örneği saptamıştır ($p < 0.001$) (Tablo 2).

Lökosit

Lökosit açısından anormal olarak değerlendirilen örnek sayısı hem IRIS 'de hem de boyalı manuel incelemede, boyasız incelemeye göre daha fazladır. ($p < 0.001$) Lökosit için boyalı metot ve IRIS karşılaştırıldığında boyalı metotla daha fazla anormal idrar tespit edilmiştir ($p < 0.001$) (Tablo 3).

Tablo 4. Epitel hücrelerinin metodlar arası karşılaştırmalı bulguları (N=epitel yok, A=epitel var)

Boyasız/Boyalı	N	A	T	Boyasız/IRIS	N	A	T	Boyalı/IRIS	N	A	T
N	45	34	79	N	14	65	79	N	9	64	73
A	28	102	130	A	38	92	130	A	43	93	136
T	73	136	209	T	52	157	209	T	52	157	209
<i>P<0.001</i>				<i>p>0.05</i>				<i>p<0.01</i>			

Tablo 5. Bakterilerin metodlar arası karşılaştırmalı bulguları (N=bakteri yok, A=bakteri var)

Boyasız/Boyalı	N	A	T	Boyasız/IRIS	N	A	T	Boyalı/IRIS	N	A	T
N	26	6	32	N	4	28	32	N	6	32	38
A	12	16	28	A	8	20	28	A	6	16	22
T	38	22	60	T	12	48	60	T	12	48	60
<i>P<0.01</i>				<i>p>0.05</i>				<i>p>0.05</i>			

Tablo 6. Silendirlerin metodlar arası karşılaştırmalı bulguları (N=silendir yok, A=silendir var)

Boyasız/Boyalı	N	A	T	Boyasız/IRIS	N	A	T	Boyalı/IRIS	N	A	T
N	3	1	4	N	0	4	4	N	0	3	3
A	0	1	1	A	0	1	1	A	0	2	2
T	3	2	5	T	0	5	5	T	0	5	5
<i>P>0.05</i>											

Epitel

Epitel hücrelerini belirlemede boyalı inceleme boyasızla göre anlamlı derecede fazla anormal idrar tespit etmiştir ($p<0.001$). IRIS boyasız incelemeye göre farklı bulunmazken, boyalı incelemeye göre belirgin fazla anormal idrar tespit etmiştir ($p<0.01$) (Tablo 4).

Bakteri

Boyalı boyasız manuel incelemeler karşılaştırıldığında, boyasız incelemede anlamlı derecede fazla anormal idrar örneği tespit edilmiştir ($p<0.01$). IRIS ise boyasız ve boyalı metottan anlamlı düzeyde farklı bulunmamıştır (Tablo 5).

Silendir

Silendirler incelendiğinde IRIS ile 5 tane idrar örneğinde silendir saptanmıştır. Bu idrarların 4'ü boyasız yöntem ile normal, 1'i anormal tespit

edilirken, boyalı yöntemde 3 idrar normal, 2 idrar anormal bulunmuştur (Tablo 6).

Kristal

Kristal yönünden boyalı yöntem boyasızdan belirgin fazla anormal idrar örneği tespit etmiştir ($p<0.001$). IRIS ise her iki manuel yöntemden az anormal idrar örneği tespit etmiştir ($p<0.05$) (Tablo 7).

Tartışma

İdrar analizleri biyokimya laboratuvarlarında en fazla emek yoğun ve zaman alıcı test olmasına ve sağladığı klinik yararları ters orantılı bir yere ve öneme sahiptir (1,4,5). Çalışmamızda yarı otomatik idrar analizörü olan IRIS'in idrar mikroskopisi sonuçları aynı örneklerin boyalı ve boyasız preparatlarının manuel inceleme sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 7. Kristallerin metodlar arası karşılaştırmalı bulguları (N=kristal yok, A=kristal var)

Boyasız/Boyalı	N	A	T	Boyasız/IRIS	N	A	T	Boyalı/IRIS	N	A	T
N	9	3	12	N	3	9	12	N	3	9	12
A	3	28	31	A	19	12	31	A	19	12	31
T	12	32	43	T	22	21	43	T	22	21	43
<i>P<0.001</i>				<i>p<0.05</i>				<i>p<0.05</i>			

Hiç şüphe yoktur ki, biyokimya laboratuvarlarında otomasyon geliştikçe testlerin güvenilirliği, kesinliği ve sonuç verme hızı artmaktadır. Ancak otomasyon ve analizörlerin de belirli bir maliyeti bulunmaktadır. Bu durumda deneyimli personelin standardize edilmiş bir yöntem ile de güvenilir sonuçlar verebileceği hatırd tutulmalıdır (2,4).

Çalışmamızda IRIS eritrosit sayısı ve eritrosit açısından patolojik idrarı tespit etmede manuel yöntemlerden daha başarılı bulunmuştur. Oysa lökositler için boyalı preparatlar boyasız preparatlara göre daha başarılıdır. Bu nedenle enfeksiyondan şüphelenilen hasta idrarlarının boyalı preparat ile incelenmesi ve kalitatif parametreler ile karşılaştırılması daha doğru yorumların yapılmasını sağlayabilecektir.

İdrarda bulunan silendirler fazla stabil değildir, kolayca parçalanarak tanınmaları zorlaşabilir. Dilue ve alkali idrarlar da ayrıca bekleme ile kolayca bozulabilirler. Ancak klinik olarak kıymetli bilgiler verebilen bu partiküllerin tanınması önemlidir. Bu çalışmada IRIS ile 3 vakada hyalen, 2 vakada granüler silendir olmak üzere toplam 5 vakada silendir saptanmıştır. Boyalı ve boyasız manuel yöntemler ile hyalen silendir hiç görülemezken boyalı yöntem granüler silendirlerin görülmesini sağlamıştır. Ancak olgu sayıları istatistiksel değerlendirme için yetersiz olduğundan tüm silendir çeşitleri tek bir grup olarak ele alınmıştır.

Epitel hücreleri belirlenmesinde boyalı ve boyasız preparatlar arasında fark bulunamaz iken IRIS her iki manuel yöntemden daha az sayıda epitel belirlemiştir. Bu durum, IRIS ile intakt epitel hücrelerinin değerlendirmeye alınması ve deforme olmuş epitel hücrelerinin değerlendirme dışı bırakılması sonucunda ortaya çıkmaktadır.

Kristalürinin saptanmasında boyalı preparatlar

boyasız preparatlardan IRIS ise her ikisinden de fazla pozitif sonuç vermiştir.

İdrar mikroskobisi ile yapılan önceki çalışmalarda; Williams, IRIS mikroskopi sonuçlarının eritrosit, lökosit, silendir ve bakteri belirlenmesinde daha üstün olduğunu saptamıştır (6). Elin ve arkadaşları, yine IRIS ile manuel mikroskopiye göre daha fazla silendir belirlemişlerdir. Ancak şekilli elemanların çok fazla ya da çok az olduğu idrar örneklerinde manuel mikroskobik incelemenin de doğru sonuçlar verdiğini gözlemişlerdir (7). Diğer araştırmacılar da IRIS'in idrardaki şekilli elemanları belirlemede manuel mikroskopiye göre daha başarılı olduğunu, özellikle eritrosit, lökosit, silendir ve bakterilerin daha doğru ölçümünün yapıldığını saptamışlardır (8).

Yarı otomatik idrar analizörü olan IRIS, idrar analiz prosedürünün standardize edilmesini, oyalayıcı ve zaman alıcı el işlerinin ortadan kalkmasını, raporlama ve arşivlemenin hızlı ve doğru yapılmasını sağlamaktadır. Ayrıca manuel mikroskopiye göre kesinliği daha iyidir (7,8).

Sonuç olarak biyokimya laboratuvarlarında rutinde en fazla yapılan testlerden olan idrarın mikroskobik incelemelerinin laboratuvarın olanakları ölçüsünde otomatik analizörlerde yapılmasının klasik preparat incelemelerine göre belirgin üstünlüğü vardır. Özellikle eritrosit, lökosit, silendir ve kristallerin saptanmasında bu gözlenmektedir. Ancak bu kadar yaygın kullanıma sahip idrarın mikroskobik analizlerinin tüm laboratuvarlarda analizörlerde yapılmasının mümkün olmadığı düşünülürse idrar sedimentinin boyanarak incelenmesinin de idrarda bazı partiküllerin tanınmasını kolaylaştıracağı, sonucunda incelenen büyük büyütme ve/veya küçük büyütme sahası başına rapor edilmesinin klinik ile uyumlu ve yol gösterici değerlendirmeler sağlayacağı hatırd tutulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Schumann GB, Schweitzer SC. Examination of Urine. In: Henry JB, ed. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 18th Edition. Philadelphia: WB Saunders Company. 1991: 387-444.
2. Nanji AA, Adam W, Campbell DJ. Routine microscopic examination of the urine sediment. Arch Pathol Lab Med 1984; 108:399-400.
3. Loo SYT, Scottolini AG, Luangphimith S, Adam AL. Performance of a urine-screening protocol. Am J Clin Pathol 1986; 85:479-84.
4. Gantzer ML, Farr J. Liquid gold: A workshop in routine urinalysis. 2-6 August 1998, 50th Annual Meeting of AACC, Chicago, USA.
5. Sternheimer R, Malbin B. Clinical recognition of pyelonephritis with a new stain for urinary sediments. Am J Med 1951; 11:312-5.
6. Williams KH. Comparison of automated and manual urine microscopy. 21-27 September 1991, Fall Meeting of ASCP/CAP, New Orleans, USA.
7. Elin RJ, Hosseini JM, Kestner J, Rawe M, Ruddel M, Nishi NN. Comparison of automated and manual methods for urinalysis. Am J Clin Pathol 1986; 86:731-7.
8. Roe CE, Carlson DA, Daigneault RW, Statland BE. Evaluation of the yellow IRIS : An automated method for urinalysis. Am J Clin Pathol 1986; 86:661-5.